

بیان، تخلص و بررسی عملکرد ناحیه کینازی گیرنده نوترکیب عامل رشد فیبروبلاستی 2b انسانی

معصومه مقدسی* دکتر داریوش ایلغاری** دکتر نعمت‌الله غیبی*** دکتر مجید سیرتی ثابت**** فرهاد خباز***** دکتر حسین پیری**

* دانشجوی کارشناسی ارشد زیست فناوری پزشکی دانشگاه علوم پزشکی قزوین
 ** استادیار بیوشیمی بالینی دانشگاه علوم پزشکی قزوین
 *** دانشیار بیوفیزیک مرکز تحقیقات سلولی و مولکولی دانشگاه علوم پزشکی قزوین
 **** دانشیار بیوشیمی دانشگاه علوم پزشکی قزوین
 ***** کارشناس ارشد بیوشیمی دانشگاه علوم پزشکی قزوین

آدرس نویسنده مسؤول: قزوین، بلوار شهید باهنر، دانشگاه علوم پزشکی قزوین، دانشکده پزشکی، گروه بیوشیمی و ژنتیک، تلفن ۰۲۸۱-۳۳۲۴۹۷۱

Email: d.lghari@gmail.com

تاریخ پذیرش: ۹۲/۱۰/۱۷

تاریخ دریافت: ۹۲/۸/۲۰

*چکیده

زمینه: گیرنده عامل رشد فیبروبلاستی 2b (FGFR2b) در مسیر پیام‌رسانی سلولی و تنظیم فرایندهای مهم زیستی از جمله تمایز و تکثیر سلولی نقش اساسی دارد. تغییرات ژنتیکی نظیر جهش نقطه‌ای در ناحیه تیروزین کینازی FGFR2b با سرطان پستان، تخمدان و رحم در ارتباط است. **هدف:** مطالعه به منظور بیان و خالص‌سازی مقدار مناسبی از ناحیه کینازی FGFR2b انسانی انجام شد.

مواد و روش‌ها: این مطالعه تجربی در سال ۱۳۹۲ در دانشگاه علوم پزشکی قزوین انجام شد. پلاسمید pLEICS-01 که حاوی ژن ناحیه تیروزین کینازی پروتئین نوترکیب FGFR2b بود به باکتری مستعد اشرشیاکلی BL21 جهت بیان ژن مورد نظر انتقال داده شد. بیان پروتئین نوترکیب با استفاده از IPTG یک میلی‌مولار القا و با استفاده از الکتروفورز روی ژل پلی‌اکریل آمید در حضور SDS (SDS-PAGE) ارزیابی شد. پروتئین بیان شده با استفاده از کروماتوگرافی میل ترکیبی توسط ستون حاوی Ni²⁺-NTA خالص شد. فعال بودن نمونه پروتئین بعد از دیالیز توسط تعامل با ناحیه SH2 فسفولیپاز C (PLC) طبیعی و موتان توسط روش PAGE بررسی شد. داده‌ها با آزمون‌های آماری واریانس یک طرفه و توکی تحلیل شدند.

یافته‌ها: بررسی SDS-PAGE قبل و بعد از القا شدن نشان داد که پروتئین بیان شده در دمای ۲۰ درجه سانتی‌گراد محلول بود. همچنین بررسی SDS-PAGE تأیید کرد که پروتئین خالص شده عاری از آلودگی بود و پروتئین‌های باکتریایی نداشت. نتایج PAGE فعال بودن پروتئین خالص شده را تأیید کرد.

نتیجه‌گیری: باتوجه به یافته‌ها، ناحیه کینازی گیرنده نوترکیب عامل رشد فیبروبلاستی 2b که یک پروتئین ۳۸ کیلودالتونی است، تولید و خالص شد که به صورت محلول و فعال بود.

کلیدواژه‌ها: گیرنده‌های عامل رشد فیبروبلاست، پروتئین‌ها، جداسازی و خالص‌سازی، الکتروفورز ژل پلی‌اکریل آمید

*مقدمه:

جنینی و بزرگ‌سالی در بدن توسط این گیرنده‌ها با اتصال به عوامل رشد فیبروبلاستی (FGF) انجام می‌شوند.^(۱) عوامل رشد فیبروبلاستی در پستانداران، خانواده‌ای ۱۸ عضوی هستند که از طریق چهار گیرنده تیروزین کینازی (FGFR1 تا FGFR4) ایجاد پیام می‌کنند.^(۲)

گیرنده‌های عامل رشد فیبروبلاستی (FGFR) در مسیر پیام‌رسانی سلول، نقش کلیدی در تنظیم فرایندهای زیستی از جمله تکثیر سلولی، بقا، مهاجرت و تمایز سلولی ایفا می‌کنند.^(۱) متابولیسم سلولی، ترمیم بافتی، رگ‌زایی و توسعه مراحل جنینی از جمله وظایفی هستند که در دوران